KOREAN J FOOD COOKERY SCI
Vol. 21, No. 1, (P.40~46) FEB, 2005

청피 추출물이 식중독 유발 미생물의 증식에 미치는 영향

배지현* · 박효은 · 배희정
계명대학교 식품영양학과

Antimicrobial Effect of *Citrus unshiu* Markovich Extracts on Food-Borne Pathogens

Ji-hyun Bae*, Hyo-eun Park , Hee-jung Bae
Dept. of Food Science and Nutrition, Keimyung University

Abstract

This study was performed to investigate the antimicrobial effects of the *Citrus unshiu Markovich* extracts against food-borne pathogens. First, the *Citrus unshiu* Markovich was extracted with methanol at room temperature, and fractionation of the methanol extracts from *Citrus unshiu* Markovich was carried out by using petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, and methanol. The antimicrobial activity of the *Citrus unshiu* Markovich extracts was determined using the paper disc method against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. The ethyl acetate extracts of*Citrus unshiu* Markovich showed the highest antimicrobial activity against *Bacillus cereus* and *Shigella sonnei*. A synergistic effect was found in combined extracts of *Citrus unshiu* Markovich and *Hedyotis diffusa* Willd as compared to each extract alone.Finally, the growth inhibition curve was determined using ethyl acetate extracts of *Citrus unshiu* Markovich against *Bacillus cereus* and *Shigella sonnei*. The ethyl acetate extract of *Citrus unshiu* Markovich showed strong antimicrobial activity against *Bacillus cereus* at the concentration of 5,000 ppm. The 5,000 ppm of ethyl acetate extract from *Citrus unshiu* Markovich retarded the growth of *Bacillus cereus* more than 24 hours and *Shigella sonnei* up to 24 hours. The ethyl acetate extracts of *Citrus unshiu* Markovich have shown an antimicrobial effect against *Bacillus cereus* and *Shigella sonnei*.

Key words: *Citrus unshiu* Markovich, antimicrobial activity, food-bornepathogens

Ⅰ. 서 론

현대사회가 경제발전과 더불어 고도로 조직화, 산업화가 되어감에 따라 식생활의 양상에도 변화가 일어 점차 외식화, 서구화가 진행되어 가고 있다. 외식문화가 일상화되면서 식중독의 위험에 많이 노출되고 있는 실정이다. 식중독이란 의학적으로 특정한 질병으로 분류되고 있지는 않지만, 식중독은 환자 자신 뿐만 아니라 사회에 적지 않은 경제적 손실을 초래하게 된다. 식중독은 대부분 세균성 식중독으로서, 여기에는 살모넬라균, 장염 비브리오균, 웰치균, 병원성 대장균 등에 의한 감염형 식중독과 포도상구균, 보툴리누스균 등에 의한 독소형 식중독이 있다. 이러한 식중독을 방지하기 위해 여러 가지 물리적, 화학적 방법이 고안되고 있지만, 근래에 소비자들의 건강 욕구 증대에 따라 비교적 안전성과 환경 친화성이 있는 천연 식품보존제의 개발이 요구되고 있다. 최근에는 한약재와 같은 천연 식물 중에서도 상당한 항균성 물질이 존재한다고 알려져 이들 성분의 약리 작용 및 항균성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있고, 이것을 조리과학이나 식품산업에 응용하려는 추세이다[1,2].

한편 청피(*Citrus unshiu* Markovich)는 쥐손이풀목 운향과의 상록활엽교목으로 한국이나 중국, 일본, 동남아시아 등지에 분포한다[3]. 한방에서는 미숙한 녹색의 열매 껍질을 청피(青皮)라고 하며, 진통제, 소화불량, 식욕부진 등의 치료에 이용하고 있다. 민간요법으로 완숙하여 황적색이 된 껍질을 귤피, 오래 된 껍질을 진피라 하여 이뇨제나 기관지염 등의 치료에 쓰기도 한다[4]. 또한 최근에는 청피와 모려를 이용한 건강 기능성 음료를 개발했다는 보고도 있고[5], 청피가 신경세포에서 자가 학습행동 표출에 관

Corresponding author: Ji-hyun Bae, Keimyung University, 1000, Sin-dang dong, Dal-suh gu, Dae-gu 704-701, Korea
Tel: 82-53-580-5875
Fax: 82-53-580-5885
E-mail: jhb@kmu.ac.kr

여하는5-hydroxytryptamine의 흡수를 억제하며[6], 생쥐의 면역세포 증강에 효과가 있음이 보고되고 있다[7]. 이와 같이 음료와 약재에 관한 청피의 활용에 대한 다양한 연구가 이루어져 왔으나, 식품 보존과 관련된 식중독성 미생물에 대한 항균효과의 구체적인 연구가 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 청피 추출물이 각종 식중독 유발 세균의 증식에 미치는 영향을 검증해 보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료

본 실험에서 사용한 항균성 시험 대상 식물인 청피는 한국산으로, 대구시 중구 남성로 약전 골목에서 2003년 11월, 건조 상태의 것을 구입하였다. 불순물을 제거하기 위해 가볍게 2번 수세하여 건조시킨 후, 추출용 시료로 사용하였다.

2. 사용 균주 및 배지

청피 추출물의 항균실험에 사용한 균주는 Gram (+)세균 2종과 Gram(-)세균 7종으로 총 9종을 한국과학기술연구원 생명공학연구소에서 분양 받아 사용하였다(Table 1). 균의 생육배지로는 모든 균주에 대하여 Tryptic Soy Broth(Difco, TSB)를 사용하여 37 ℃, incubator에서 18~24시간 배양하였다. 항균성 실험에 사용한 고체배지는 Tryptic Soy Agar(Difco, TSA)였다.

3. 항균성 물질의 추출

건조시킨 청피 600 g에 대해 청피 중량의 2배 분량인 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol을 사용하여 항균성 물질을 추출하였다. 추출관에 청피를 넣고 1 ℓ의 methanol을 넣은 후 실온에서 6시간 방치한 후, Whatman No. 2(Whatman international Ltd., England)에 여과하여 불순물을 제거하였다. 여과된 용액은 감압농축기(EYELA, N-N. Series. Japan)를 사용하여 35 ℃ 에서 감압 · 농축하였으며 농축한 추출물은 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate 및 methanol을 각각 사용하여 용매 계통 분획하였다. 청피의 열수 추출물은 유기용매로 추출하고 남은 잔사에 1차 증류수를 넣고, 실온에서 6시간 방치한 뒤 여과하여 100 ℃에서 30분간 끓인 후 동일한 방법으로 농축하였다. 농축한 용액은 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

Table 1. List of microorganisms used for antimicrobial activity test.

	Strains
Gram positive bacteria	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
	Bacillus cereus ATCC 27348
Gram negative bacteria	*Escherichia coli* ATCC 25922
	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853
	Salmonella typhimurium ATCC 14028
	Salmonella enteritidis ATCC 13076
	Shigella sonnei ATCC 25931
	Shigella dysenteriae ATCC 9199
	Shigella flexneri ATCC 12022

4. 청피 추출물의 항균활성 측정

항균성 물질을 검색하기 위해 본 실험에서는 paper disc방법을 사용하였다. Tryptic Soy Broth(TSB) 배지에 배양한 세균을 spectrophotometer(Nontron instruments. Italy) 560 nm에서 O.D.값 0.4로 흡광도를 조절하고 pour-plate method에 따라 Tryptic Soy Agar(TSA)배지가 분주 된 배양접시에 균일하게 섞은 후 실온에서 굳혔다. 이 배지 위에 멸균된 paper disc를 시료 수에 맞게 올리고 밀착시킨 후 청피의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol, 열수추출물을 각각 250 ppm, 500 ppm, 1,000 ppm, 2,000 ppm으로 희석하여 20㎕씩 천천히 흡수시켰다. Control은 청피 추출물이 들어 있지 않은 70% ethanol을 실험군과 동일한 방법으로 점적하였다. 준비된 모든 plate는 37 ℃에서 24시간 배양한 후 disc 주변에 생성된 clear zone(mm)의 크기를 측정하여 각 분획물의 항균 활성 정도를 측정하였다.

5. 항균력의 상승효과 측정

청피 추출물을 다른 항균성 식물 추출물과 혼합했을 시 항균력의 상승 여부를 확인하고자 백화사설초 추출물과의 혼합을 시도하였다. 본 실험의 예비 실험에서 항균력이 있음이 입증된 청피의 ethyl acetate 추출물과 백화사설초의 methanol 추출물을 각각 1,000 ppm씩 섞고, 청피의 ethyl acetate 추출물 2,000 ppm 및 백화사설초의 methanol 추출물 2,000 ppm과 항균력을 비교하였다. 대상 균주는 *Shigella flexneri*를 사용하고 대조군으로 70% ethanol을 각 시료와 동일한 양인 20 ㎕씩 분주하여 검증하였다.

6. 미생물의 생육 곡선 측정

청피의 ethyl acetate 추출물을 membrane filter(0.2 ㎛, pore size. Toyoroshi kaisha. Ltd. Japan)로 제균시키고, 액체배지에 각 추출물을 1,000 ppm, 3,000 ppm, 및 5,000 ppm 농도별로 첨가하였다. 여기에

O.D.값을 0.4로 맞춘 세균 배양액을 최종농도가 10^{-9}이 되게 무균적으로 접종하여 37 ℃ 에서 72시간 배양하고, 12시간마다 세균 배양액의 증식정도를 620 nm, spectrophotometer에서 측정하였다[8].

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 청피의 각종 유기용매 및 열수추출물의 수율

청피의 추출물을 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate 및 methanol로 각각 분리한 결과, 각 분획물의 추출 수율은 Table 2와 같이 나타났다. 청피의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol 분획물 및 열수추출물은 각각 0.2%, 0.3%, 0.7%, 11.4% 및 21.6%로 나타나, petroleum ether의 수율이 가장 낮았고 열수추출물의 수율이 가장 높았다.

2. 청피의 유기용매 및 열수추출물의 항균활성 검색

Paper disc 방법으로 청피의 각종 유기용매 분획물 및 열수추출물을 각종 식품부패균 및 식중독균에 적용시켜 항균 활성을 실험해 본 바 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다. Gram 양성균에 대한 청피의 petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, methanol 추출물 및 열수추출물의 항균활성은 Table 3과 같이 나타나 disc에 점적한 청피의 각종 추출물의 농도가 증가할수록 항균 활성이 크게 나타났다. 즉 농도가 증가할수록 항균 활성을 나타내는 inhibition zone의 크기가 증가하여 ethyl acetate 추출물의 경우 *Staphylococcus aureus* 에 대해 2,000 ppm 농도에서 18 mm로 가장 큰 활성도를 나타내었다(Fig. 1). 청피 추출물의 종류 및 농도에 따라 각 균주들에 대한 다른 활성을 나타내 균의 종류에 따라 각기 다른 항균활성을 나타내, 청피의 petroleum ether 추출물은 *Staphylococcus aureus*에 대해 주된 항균 활성을 나타내었고, 청피의 chloroform 추출물은 *Pseudomonas aeruginosa* 에서 가장 큰 활성을 나타내었다. 청피의 ethyl acetate 추출물은 본 실험에 사용한 모든 균주에 대해 항균활성을 나타내었고 500 ppm 농도에서도 항균효과가 나타났다. 갓의 에탄올 추출물 중 ethyl acetate 분획물은 *Staphylococcus aureus* 에 대해서 가장 높은 항균활성이 있음이 보고된 바 있는

Table 2. Yield of organic solvents and water extracts from *Citrus unshiu Markovich*

Fraction	Dried weight(g)	Yield(%)
Petroleum ether extract	1.3	0.2
Chloroform extract	1.5	0.3
Ethyl acetate extract	4.2	0.7
Methanol extract	52.2	11.4
Aqueous extract	130	21.6

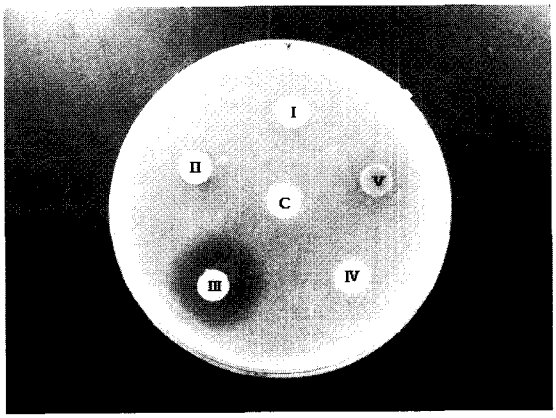

Fig. 1. Antimicrobial activities of various extract of *Citrusunshiu Markovich* against *Bacillus cereus* at the concentration of 2,00 0ppm.

C: control (70% ethanol) Ⅰ: petroleum ether extract
Ⅱ: chloroform extract Ⅲ: ethyl acetate extract
Ⅳ: methanol extract Ⅴ: Aqueous extract

Table 3. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Citrus unshiu Markovich* against Gram positive bacteria.

Strains	Fraction conc.(ppm)	Clear zone on plate(mm)[1]				
		PE	C	EA	M	W
Staphylococcus aureus	250	-[2]	-	-	-	-
	500	-	-	14	-	-
	1,000	-	-	15	-	-
	2,000	13	12	18	-	-
Bacillus cereus	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	16	-	-
	1,000	-	-	17	-	-
	2,000	-	-	18	-	-

[1] Diameter, [2] No inhibitory zone was formed
PE : Petroleum ether extract C : Chloroform extract EA : Ethyl acetate extract
M : Methanol extract W : Water extract

데[9], 본 실험에서도 청피의 ethyl acetate 추출물이 *Staphylococcus aureus* 에 대해 가장 강한 항균효과를 나타내었다. 본 실험에 사용한 각종 청피 추출물의 Gram 음성균에 대한 항균력 검색 결과는 Table 4와 같이 나타났다. 이 처럼 청피의 ethyl acetate 추출물은 Gram 양성균과 Gram 음성균에 대해 폭넓은 항균력을 지니고 있음을 알 수 있었는데 Kim 등[10]은 산초의 메탄올 추출물이 *E. coli*와 *S. aureus*에 항균성이 있다고 보고한 바 있다. 한편 본 실험에 사용한 청피 추출물의 농도가 250 ppm이하인 경우에는 항균 효과를 검증할 수 없었고, 청피의 petroleum ether 추출물과 chloroform 추출물의 경우도 모든 균주에 대해 그다지 큰 항균활성을 나타내지 않아 500 ppm이상에서만 항균력을 관찰할 수 있었다. 식물의 ethyl acetate 추출층에는 사포닌 성분, 유기산류, 탄닌, 당, 배당체 및 기타 알칼로이드류가 주로 용출되는 것으로 알려져 있는데, 본 실험에서 가장 높은 항균력을 보인 청피의 ethyl acetate 추출물에도 이와 유사한 성분들이 함유되어 있을 것으로 사료된다. Hong 등[11]은 유백피의 butanol추출물이 Gram 양성균인 *S. aureus, S. faecalis* 및 *Bacillus sp.* 에 대하여 발육억제 효과를 보이며 Gram 음성균인 *E. coli* 와 진균인 *Candida albicans* 에 대해서는 억제효과가 없다고 보고한 바 있으나, 본 실험에 사용한 청피의 경우 Gram 양성과 음성 균주 간에 특징적인 차이를 보이지 않았다.

3. 청피 추출물과 백화사설초 추출물의 상승 효과

청피의 ethyl acetate 추출물과 백화사설초의 methanol 추출물를 섞었을 경우 나타나는 항균효과는 Table 5와 같이 나타났다. 본 실험에서 가장 민감한 항균효과를 보였던 *Shigella flexneri* 에 대한 두

Table 4. Antimicrobial activities of each solvent fraction from *Citrus unshiu Markovich* against Gram negative bacteria.

Strains	Fraction conc.(ppm)	Clear zone on plate(mm)[1]				
		PE	C	EA	M	W
Escherichia coli	250	-[2]	-	-	-	-
	500	-	-	7	-	-
	1,000	-	-	11	-	-
	2,000	-	-	15	-	-
Pseudomonas aeruginosa	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	15	-	-
	1,000	-	-	16	-	-
	2,000	-	13	18.5	-	-
Salmonella typhimurium	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	8	-	-
	1,000	-	-	9	-	-
	2,000	-	-	13	-	-
Salmonella enteritidis	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	7	-	-
	1,000	-	-	10	-	-
	2,000	8	9	14	-	-
Shigella sonnei	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	9	-	-
	1,000	-	-	11	-	-
	2,000	-	-	17	-	-
Shigella dysenteriae	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	11	-	-
	1,000	-	-	13	-	-
	2,000	-	7	15	-	-
Shigella flexneri	250	-	-	-	-	-
	500	-	-	8	-	-
	1,000	-	-	9	-	-
	2,000	-	-	11	-	-

[1] Diameter, [2] No inhibitory zone was formed

PE : Petroleum ether extract C : Chloroform extract EA : Ethyl acetate extract

M : Methanol extract W : Water extract

식물 추출물의 항균력은 청피 추출물과 백화사설초 추출물을 혼합했을 경우 더 크게 나타나, 청피의 ethyl acetate 추출물만을 단독으로 2,000 ppm 준 경우(17 mm)보다 청피의 ethyl acetate 추출물 1,000 ppm에 백화사설초의 methanol 추출물 1,000 ppm을 섞어 준 경우가 더 큰 항균력을 보였다(23 mm). *Shigella flexneri* 균에 대해서도 두 추출물을 각각 1,000 ppm씩 섞어 투여한 경우가 청피의 ethyl acetate 추출물 2,000 ppm을 단독으로 준 경우보다 높은 항균력을 보였다(Fig. 2). 백화사설초는 예로부터 민간요법에서 이용되어 왔을 뿐만 아니라 이들의 각종 약리효과가 널리 알려져 있는 약초[3]인데 본 실험에서도 청피 추출물의 항균력을 더 해 주었다.

4. 청피의 ethyl acetate 추출물이 Gram 음성 및 Gram 양성균의 증식에 미치는 영향

청피의 ethyl acetate 추출물을 농도별로(0 ppm, 1,000 ppm, 3,000 ppm 및 5,000 ppm) TSB배지에 첨가하고, Gram 양성균인 *Bacillus cereus*와 Gram 음성균인 *Shigella sonnei* 에 각각 접종시켜 72시간 배양하면서 일정 시간 간격으로 균주의 성장 정도를 측정해 본 바, Fig. 3 및 Fig. 4와 같은 증식곡선을 얻을 수 있었다. *Bacillus cereus*의 경우, 청피의 ethyl acetate 추출물을 넣지 않은 control배지에서 배양했을 시 12시간 후부터 급격한 증가를 보여 빠른 성장이 일어남을 관찰할 수 있었다. 청피의 ethyl acetate추출물 1,000 ppm을 첨가한 배지에서는 균의 성장이 36시간까지 억제됨을 관찰할 수 있었고, 5,000 ppm의 농도에서는 48시간 이상까지 균의 증식이 지연되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

Table 5. Antimicrobial activity of combinded extracts from *Citrusunshiu Markovich* and *Hedyotis diffusa Willd*

Strains	Clear zone on plate(mm)[1] at 1,000ppm			
	control	*Citrusunshiu Markovich* (2,000ppm)	*Hedyotis diffusa Willd* (2,000ppm)	Both[3] (each 1,000ppm)
Staphylococcus aureus	-[2]	17	12	23
Shigella flexneri	-	15	9	24

[1] Diameter
[2] No inhibitory zone was formed
[3] *Citrusunshiu Markovich* and *Hedyotis diffusa Willd*

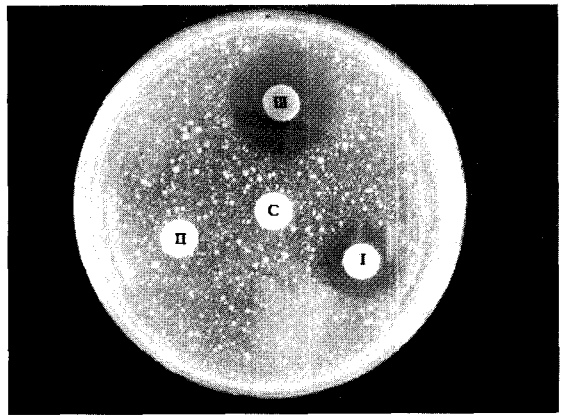

Fig. 2. Antimicrobial activities of ethyl acetate extract of *Citrusunshiu Markovich*, methanol extract of *Hedyotis diffusa Willd* and both extracts against *Shigella flexneri*.
C : control (70% ethanol),
Ⅰ : *Citrusunshiu Markovich* (2,000 ppm)
Ⅱ : *Hedyotis diffusa Willd* (2,000 ppm)
Ⅲ : *Citrusunshiu Markovich* (1,000 ppm) and *Hedyotis diffusa Willd* (1,000 ppm)

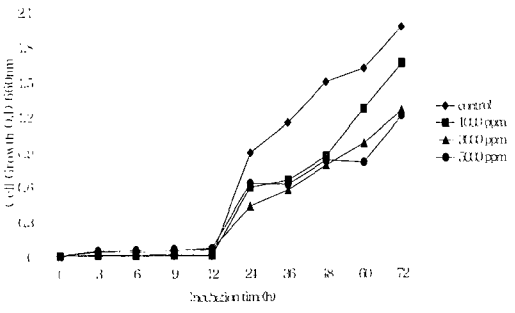

Fig. 3. Effect of ethyl acetate extracts of *Citrus unshiu Markovich* against the growth of *Bacillus cereus*.
Concentration of ethyl acetate extracts :
(◆) control; (■) 1,000 ppm; (▲) 3,000 ppm; (●) 5,000 ppm

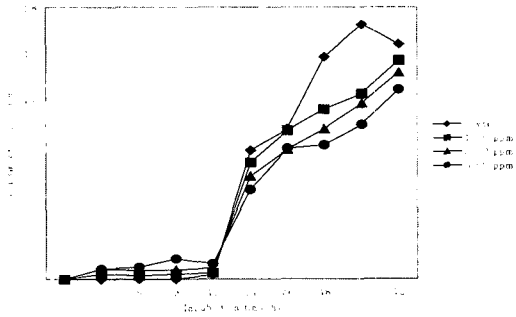

Fig. 4. Effect of ethyl acetate extracts of *Citrus unshiu Markovich* against the growth of *Shigella sonnei*.
Concentration of ethyl acetate extracts :
(◆) control; (■) 1,000 ppm; (▲) 3,000 ppm; (●) 5,000 ppm

Kim[12]등은 녹차의 추출물이 *Bacillus subtilis, Bacillus pulmilus, Bacillus cereus*과 곰팡이 *Aspergillus niger* 모두 녹차추출물 1% 이상에서 우수한 항균력을 가지고 있으며, 생육이 억제됨을 확인하였다. Park[13]등은 매실 추출물이 *Bacillus. cereus* 경우에는 3%와 4% 첨가에 의해 모두 12시간, 그리고 2% 첨가구에서는 24시간에 완전히 생육을 정지시키는 뚜렷한 생육 억제 효과에 대해 연구하였다. Kim[14]등은 소목 조추출물을 10 ppm 첨가수준에서 모든 시험 균주에 대해 뚜렷한 증식 저해 효과를 나타냈고 가자육은 *L. monocytogenes, B. cereus, S. aureus* 그리고 *P. fluorescens*에 대해 농도에 비례하여 상당한 항균 활성을 갖는다고 보고한 바 있어, 천연물에서 분리되는 각종 항균성 물질을 섞어 활용하면 식중독균의 성장을 효율적으로 억제할 수도 있을 것으로 사료된다. 청피의 ethyl acetate추출물이 *Shigella sonnei*에 대해 미치는 생육 저해 정도를 동일한 방법으로 72시간 동안 살펴본 바 Fig. 4와 같은 결과를 얻을 수 있었다. 청피의 ethyl acetate 추출물을 첨가하지 않은 control의 경우 배양 후 12시간부터 급속한 균의 증식을 볼 수 있었고, 5,000 ppm 농도를 첨가하였을 경우 균의 증식이 완만하게 이루어져 청피의 ethyl acetate 추출물이 *Bacillus cereus*와 *Shigella sonnei* 균의 성장을 효율적으로 억제시킬 수 있는 것으로 판단되었다.

Ⅳ. 요 약

본 연구에서는 식중독 유발세균에 대한 항균활성이 우수한 천연 항균성 물질을 검색하기 위해 예로부터 민간과 한방에서 널리 이용되어 온 청피를 각종 유기용매로 추출하여 식중독 유발세균에 대한 항균활성을 조사해 보았다. 청피를 petroleum ether, chloroform, ethly acetate, methanol를 이용하여 실온에서 각각 용매별로 계통 분획하고, 열수추출물을 얻은 후, 9종의 식중독 유발세균 (*Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Salmonella enteritidis, Shigella flexneri, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Shigella dysenteriae, Pseudomonas aruginosa, Shigella sonnei*) 에 대하여 항균효과를 조사하였다. 청피 추출물의 농도별 항균 활성 검색에서는 청피의 ethyl acetate 추출물이 가장 큰 항균 효과를 보였으며 *Staphylococcus aureus*와 *Pseudomonas aeruginosa*가 가장 민감하게 반응하는 균주였다. 청피의 ethyl acetate 추출물과 백화사설초의 methanol 추출물을 혼합하여 항균력을 측정해 본 결과 두 추출물을 섞어 첨가했을 경우가 단독으로 사용했을 시 보다 상승효과를 나타내었다. 또한 청피의 ethyl acetate 추출물이 식중독 유발세균의 성장에 미치는 효과를 검정하기 위해 *Bacillus cereus* 및 *Shigella sonnei*의 배양액에 청피의 ethyl acetate 추출물을 각각 5,000 ppm 농도로 첨가했을 시, *Bacillus cereus*의 생육이 24시간 이상까지 억제됨을 관찰할 수 있었고, *Shigella sonnei*의 생육도 12시간까지 지연시킬 수 있었다.

REFERENCES

1. James GC, Sherman J. 1987. Chemotheraperapeutic agent in microbiology, Alaboratory manual chemical agents of control, 2nd ed. pp. 247-254. Prentice Hall, New Jersey, U.S.A.
2. McSwane D, Rue N, Linton R. 2000. Essential of food safety and sanitation, 2nd ed., pp.305-306. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA.
3. Yook CS. 1989. Coloured medicinal plants of Korea, pp.256-257. Academic Publishing Co. Seoul, Korea.
4. Park JH. 2002. The Encyclopedia of chinese crude drugs. pp.770-772. Shinill. Seoul, Korea.
5. Cha WS, Kim CK, Kim JS. 2002. On the development of functional health beverages using Citrus reticulata, *Ostrea gigas*. Kor. J. Biotechnol. Bioengineering 15(7):503-507.
6. Cho HM, Son KH, Jeong JS, Seo HW. 1995. Inhibitory effects of extracts from traditional herbal drugs on 5 -Hydroxytryptamine uptake in primary cultured rat brainstem neurons. Kor. J. Pharmacognosy. 26(4):349-354.
7. Eun JS, Yum JY. 1998. Effect of *Aurantii nobilis Pericarpium* and *Aurantii immaturi Pericarpium* on immunocytes in mice. Kor. J. Pharmacognosy. 29(3):173-178.
8. Karapinar M. 1990. Inhibitiory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. International J Food Microbiol, 10:193-200.
9. Kang SK. 1995. Isolation and antimicrobial activity of antimicrobial substance obtained from leaf mustard(*Brassica juncea*). Kor. J. Food Sci. Technol. 24(5):697-698.
10. Han YS, Kim SI. 1997. Isolation and identification of antimicrobial compound from Sancho (*Zanthoxylum Schinifolium*). J. Kor. Food. Cookery Sci. 13(1): 56-63.
11. Hong ND, Noh YS, Kim NJ, Kim JS. 1990. Original articles ; A Study on efficacy of *Ulmi Cortex*, Kor. J. Pharmacognosy. 21(3): 217-223.
12. Kim CS, Jung SK, Oh YK, Kim RY. 2003.

Antimicrobial activity of green tea against putrefactive microorganism in steamed bread. J. Food. Sci. Nutr. 32(3):413-417.

13. Park SI, Nam ES, Lee HE. 2003. Antimicrobial activity of maesil(*Prunus mume*) juice against selected pathogenic microorganisms. Kor. J. Food. Nutr. 16(1): 29-34.

14. Kim MS, Sin DH, Han JS. 1997. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria. Kor. J. Food Sci. Technol. 29(4):808-816.

(2004년 12월 10일 접수, 2005년 2월 15일 채택)